

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 59-192084
 (43) Date of publication of application : 31.10.1984

(51) Int.Cl.

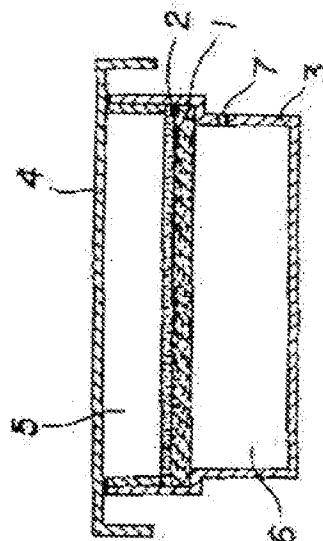
C12N 1/14
 // C12Q 1/24(21) Application number : 58-065227
 (22) Date of filing : 15.04.1983(71) Applicant : TERUMO CORP
 (72) Inventor : KAMINAGAYOSHI SATOSHI

(54) SEPARATED CULTIVATION OF MICROORGANISM IN BLOOD

(57) Abstract:

PURPOSE: To enable growth of colony in a short time by direct separated cultivation of microorganism in the blood without requiring operations such as enrichment culture, etc., by using a material obtained by attaching a filter not to pass microorganisms through to a dried absorbing substance having absorbed a liquid medium.

CONSTITUTION: A liquid medium is absorbed in an absorbing substance, and dried. The filter 2 not to pass microorganisms through is attached to the absorbing substance 1, the container 3 is provided with the filter with the absorbing substance to prepare a filter culture medium, a mixture of blood containing microorganisms, a hemolysis agent, and an anticoagulant is poured into the filter, filtered, the filtered microorganisms on the filter are cultivated by nutrition supplied from the absorbing substance. The medium is not preabsorbed in the absorbing substance, and the liquid medium together with the blood containing the microorganisms may be added to the filter. The absorbing substance preferably has absorption ability to absorb almost the whole amount of a specimen to be filtered, and a cellulosic filter, nonwoven fabric, etc. are preferable as a material for it.



⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
⑪ 公開特許公報 (A) 昭59-192084

⑫ Int. Cl.³
C 12 N 1/14
/C 12 Q 1/24

識別記号

序内整理番号
6712-4B
8213-4B

⑬ 公開 昭和59年(1984)10月31日
発明の数 2
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑭ 血中細菌の分離培養法

⑮ 特 願 昭58-68227
⑯ 出 願 昭58(1983)4月15日
⑰ 発 明 者 上永吉雄
東京都渋谷区本町5丁目25番2

出 願 人 テルモ株式会社
東京都渋谷区渋谷2丁目44番
1号
代 理 人 弁理士 西村公佑

3. 発明の詳細な説明

1. 発明の背景

技術分野

本発明は、血中中の細菌を分離し、増殖する方法を指するものである。

敗血症や菌血症等重篤な全身感染症においては患者血液中の細菌が存在しているので、これら感染症の診断には血液の細菌検査が行われる。また抗生物質の効果試験による薬剤耐性においても血液の細菌検査が行われる。これらの細菌検査には先ず液体血液から細菌を培養および分離することが必要であり、次いで菌数の測定や菌の同定等が行われる。本発明の方法はこのよう細菌検査に利用される。

(先行技術および問題点)

従来、血中細菌の培養および分離は、採取した血液を液体栄養培地と混合して培地が増殖した箇所で擗るまで培養し、次に増殖した菌を採取分離して血球寒天平板、チャコート寒天平板等の培地上に移植してさらには培養することによ

明 細 菌

1. 発明の名称

血中細菌の分離培養法

2. 特許請求の範囲

(1) 細菌混入血液を溶血剤および抗生物質混剤からなる溶媒と混合し、該混合物を、液体培地を含む容器を液体水浴と該液体水浴の上面に置かれた細菌を過ぎない大きさの孔を有するフィルタとを容器に収容してあるる液体培地をうろ過し、ろ過されたフィルタ上の細菌をそのまま培養することを特徴とする血中細菌の分離培養法。

(2) 細菌混入血液を溶血剤、抗生物質混剤および液体培地からなる溶媒と混合し、該混合物を、液体水浴と該液体水浴の上面に置かれた細菌を過ぎない大きさの孔を有するフィルタとを容器に収容してあるる液体培地をうろ過し、ろ過されたフィルタ上の細菌をそのまま培養することを特徴とする血中細菌の分離培養法。

って菌種などをコロニー育成が行なわれている。

このように従来法においては血漿から少ない細菌を直接分離して培養することが困難であり、コロニーを育成するためとして液体培養といふ付加的操作で菌数を増すことを必要とするため繁雑な操作と時間が必要である。特に上記のような液体中の培養培養は一般に 1 日から 10 日の長時間が必要するしまたコロニー育成に 1 日～2 日を要している。また血漿はそれ自体菌の増殖を抑制する作用を有し、抗菌剤が投与されている場合には血漿中の菌の増殖は一層困難であり、液体中の細菌数が少ない場合には抽出不可能な場合もある。そのため菌を分離培地へ移種する際、液体汚染や培地への細菌混入のおそれもある。

2. 本発明の目的

従って本発明の目的は、血中細菌の増殖培養等の付加的操作を必要とせず、直接血漿中の細菌をを集め、他の培地に分離移種することなくそのまま細菌を分離培養して短時間でコロニーを

育成することが可能な方法を提供することにある。

3. 本発明の具体的説明

本発明は第 1 に、細菌混入血漿を溶血剤および抗血清凝固剤からなる液体と混合し、該混合物を、液体培地を含む容器を含む液体と該液体の上面に接觸された細菌を通さない大きさの孔を有するフィルタとを容器に収容してなるる過濾装置である。また、ろ過されたフィルタ上の細菌をそのまま培養することを特徴とする血中細菌の分離培養法からなる。

本発明は第 2 に、細菌混入血漿を溶血剤、抗血清凝固剤および液体培地からなる液体と混合し、該混合物を、液体と該液体の上面に接觸された細菌を通さない大きさの孔を有するフィルタとを容器に収容してなるる過濾装置である。また、ろ過されたフィルタ上の細菌をそのまま培養することを特徴とする血中細菌の分離培養法からなる。

本発明の方法を実施するに際しては、先ず、

採取した細菌混入血漿を溶血剤および抗血清凝固剤からなる液体と混合する。この操作は、次のる過濾操作のための前処理であり、赤血球の破裂と凝血の防止を目的として行なわれる。使用される溶血剤および抗血清凝固剤には特に制限はない。それ自体公知のものが用いられる。例えば溶血剤としてはアボニンが好適に使用され、抗凝固剤としては、アミロ糊酸ナトリウム、ボリエキトーレ糊酸ナトリウム等が使用される。

かくして前処理された血漿は、ろ過装置であるろ過された細菌は他の培地に移種することなくそのままフィルタ上で培養される。

本操作で使用されるろ過装置は、第 1 図に示す如く、液体培地を含む容器を含む液体と、該液体の上面に接觸された細菌を通さない大きさの孔を有するフィルタとを収容する容器および該容器の開口部を被う蓋とからなる。容器 3 には、フィルタ 2 の上方にろ過物の血漿を貯留する空間と、液体と下方にあるろ過後の血漿を貯留する空間をおよび通気

孔 7 がそれぞれ設けられている。

液体 1 は、ろ過する液体を構成元素とする吸収剤をもつことが望ましく、材質としてはセルロース系のろ紙、不織布等が適当である。液体培地としては、細菌の増殖培養用としてそれ自体公知のものが使用される。本発明の方法においては、培地を上記のようないくつかの液体に替える代りに、これを前処理した溶血剤および抗血清凝固剤の溶液に加えておくこともできる。

フィルタ 2 の孔径は細菌を実質的に通さないものとし、0.75ミクロン以下、斜めではなく0.45ミクロン程度にするのがよい。フィルタの材質は血漿に対して不活性であれば特に制限はないが、代表例としてはトロカルキース、ボリカーボネート、ポリアミド、セルロース等のものをあげることができる。而してはミリボア（ミリボアポリーニング製品）メトリセラ（ガルメンインストルメンツカンパニー製品）などがあげられる。これらのフィル

タは、血液のう過ぎ容易なようにそれ自身の細胞の表面によって液体が吸着されているのが起きしい。フィルタと液体との接觸は接着剤により行きのがよく、接着剤としてはナイロンなどの無毒合成樹脂が好適である。

熱処理された血液をフィルタの上に置くことにより血液中の細菌はフィルタの上に分離され、血液は液体体に吸収され過剰の血液は液体から排出する。る液体より通過された空気は通気孔から外気へ排出される。吸収された血液は液体体に含まれている培地成分を溶解し、フィルタ上の細胞に養分を提供する。通過終了後、残る過剰養基を液体に保つことにより血液中の細菌をフィルタ上で培養してコロニーを育成することができる。

かくして培養された細菌は、コロニーの検査、溶離検定、菌の同定、熱感受性試験等が供される。

次に実施例を示して本発明の方法をさらに詳しく説明する。

従来の液体培養よりすぐれていた。

表 1

菌名	1 日後		2 日後			
	フィルタ	液体	フィルタ	液体		
Melissococcus	30%	22%	—	23%	—	
moningillidis	32	17	—	4	17	—
Candida	14	25	—	—	15	—
Aspergillus	2	3	—	—	3	—
Bacterioides	15	34	—	+	14	+
fragilis	4	7	—	+	7	+
Peptostreptococcus	17	3	—	—	18	+
parvulus	6	4	—	—	1	+

表 1 従来法との比較

○：陽性 ×：陰性

4. 発明の作用効果

以上述べたように、本発明の方法は、培養培養の前処理をすることなく、液体血液やの細胞全般を直接分離しコロニーの育成培養するた

第58-132634(3)

実施例

フィルタとして珪藻アセチルセルロース(日本セルロース製パンフレンフィルター(東洋紡紙社製)、液体体としてはセルロース製ガラスNO-632(東洋ガラス社製)を用い、フィルタと液体の接觸は、低濃度マイロンをフィルタと液体の間に介在させ熱接觸を行なった。フィルタと液体の間は約5.0 mmであり、これを第1回のほどとく作業する。実験に従来法との比較を行なった。すなわち、あらかじめ培地、抗凝固剤、等血液(計1.0 ml)を含んだ容器に血液2.0 mlを分注し、これを過剰培養器に分注し、培養を行なう方法と従来の液体培養(液体3.0 ml(東洋紡紙社製)、ベニキテイラー50(BD社製)との比較を行なった。培養を終了に示すが、*Streptococcus*では従来の液体培養にて検出不可能であったが、本発明の方法では1日で検出可能であり、菌の種類数も確定できる。また死コロニーとして分離されていることから菌も同定試験、熱感受性試験が行なえる。また他の菌種についても

従来法に比較して操作が簡便であり血液中のすべての菌を培養するので検出の数が増加する場合の各々の菌の検出率も高い。また液体中の菌数をコロニー数より測定することも可能である。

さらに本発明の方法ではフィルタ上で菌を液体培養と同時にコロニー育成をするので従来の液体培養に比較して培養時間がコロニー育成に必要な約1日と著しく短縮される。

5. 装置の簡単な説明

第1図は本発明の方法で使用される過剰培養器の断面図である。

1…液体体、2…フィルタ、3…容器、4…容器の蓋、5…通気孔

特許出願人 テルモ株式会社
代理人 井原士郎 桥村公



第一圖

